Aus der medizinischen Universitätsklinik Erlangen-Nürnberg
(Direktor Prof. Dr. med. N. Henning)

Über den Einfluß des Pyridoxin auf das Tumorwachstum und die Überlebensrate bei der Strahlentherapie von experimentellen Tumoren

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Friedrich-Alexander-Universität
zu
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von
Hubert Drechsel
aus Schwabach

1964

1965 № 22

Dekan: Prof. Dr. Keidel

Referent: Prof. Dr. Dr. G. Barth

Correferent: Prof. Dr. N. Henning

Tag der mündlichen Prüfung: 17. November 1964

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK - LEIDEN -

Sonderdruck aus
STRAHLENTHERAPIE Band 121, Heft 4 (1963)
Herausgegeben von J. Becker, R. Birkner, H. Langendorff, H. Meyer
VERLAG URBAN & SCHWARZENBERG / MÜNCHEN UND BERLIN
Alle Rechte, auch die des Nachdrucks, der photomechanischen Wiedergabe und der Übersetzung, vorbehalten

---

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Erlangen-Nürnberg (Direktor: Prof. Dr. *N. Henning*) und der Wilhelm-Conrad-Röntgen-Klinik der Universität Gießen (Direktor: Prof. Dr. Dr. *G. Barth*)

Zusätzliche medikamentöse Behandlung des Tumorbettes

V. Mitteilung: Über den Einfluß des Pyridoxin auf das Tumorwachstum und die Überlebensrate von Mäusen des Inzuchtstammes NMRI bei der Strahlentherapie von experimentellen Tumoren

Von

Gunther Barth, Hubert Drechsel und **Herbert Graebner**

Mit 6 Abbildungen

Wie in der vorhergehenden Mitteilung erwähnt, erschien es uns auf Grund anderer Mitteilungen im Schrifttum angebracht, die Wirkung von Vitamin B_1 und Vitamin B_6 auf die Strahlenbehandlung bösartiger Tumoren an Tieren zu überprüfen. Da vielfach die Kombination aus beiden Vitaminen einen günstigen Einfluß auf das Strahlensyndrom ausübt, soll hier zu klären versucht werden, wie das rasch wachsende Sarkom unter kombinierter Strahlen- und Vitamin-B_6-Behandlung reagiert.

Vitamin B_6 (Pyridoxin) bringt bei der Behandlung des Strahlensyndroms sehr gute Erfolge. *Campi* und *Scala* [1] verwandten Benadon (Hoffmann-La Roche) in einer Dosierung von 25 bis 75 mg täglich und berichten von der schnellen und guten Wirksamkeit dieser Therapie. *Strahm* [2] bezeichnet die Therapie mit Vitamin B_6 als optimal. Er gab wesentlich höhere Dosen (100 bis 200 mg über 2 bis 5 Tage). Auch *Lueje Casanueva* [3] konnte mit 100 bis 200 mg Vitamin B_6, i.m. oder i.v. verabreicht, die Strahlenkrankheit rasch beheben oder von vornherein verhüten. Man nimmt heute an, daß die Reaktionen, die nach Strahlenbehandlung auftreten, wie Müdigkeit, Erbrechen und Muskelbeschwerden, durch die Bildung von Histamin und histaminähnlichen Eiweißzerfallsprodukten hervorgerufen werden. *Cattaneo* und Mitarb. [4] bewiesen, daß Röntgenbestrahlungen den Histamin-Blut-Spiegel erhöhen. Andererseits führt eine Bestrahlung zu einem latenten Vitamin-B_6-Mangel, wie im Tierversuch gezeigt werden konnte [5, 6]. Ebenso wird über Vitamin-B_6-Mangel beim Tumorkranken unter Strahlentherapie berichtet [7].

Da einerseits über den Wirkungsmechanismus das Pyridoxin unter Bestrahlung noch sehr wenig bekannt ist, Schutzwirkungen jedoch vorwiegend positiv

beurteilt werden [8, 9], andererseits aber der Einfluß des Pyridoxin auf das Tumorwachstum zu widersprechenden Angaben in der Literatur geführt hat [10, 11, 12, 13, 14], ist die Frage von Interesse, ob unter dem Einfluß paratumoraler Applikation von Vitamin B_6 eine schnellere und intensivere Rückbildung der Geschwülste erreicht und ob eine längere Überlebenszeit erwartet werden kann.

Eigene Versuche

Methodik: Die Experimente wurden an insgesamt 220 männlichen weißen Mäusen des Inzuchtstammes NMRI (Naval-Medical-Research-Institute) vorgenommen.

Als Versuchstumor diente wiederum das schnellwachsende, unter der Bezeichnung S 180 bekannte Crocker-Sarkom der Maus (histologische Struktur [15]), das in der üblichen, von *Oettel* und *Wilhelm* [16] angegebenen Weise den Mäusen in das Nackenbindegewebe implantiert wurde. Bestrahlt wurde unter Tiefentherapiebedingungen wie bei *Barth, Graebner* und *Wachsmann* mit einer Einzeldosis von 510 R alle 48 Stunden [17].

Als Präparat verwendeten wir für unsere Experimente das uns freundlicherweise von der Deutschen Hoffmann-La Roche AG zur Verfügung gestellte Benadon, das in zwei verschiedenen Einzeldosen in Höhe von einmal 0,5 und zum anderen von 0,1 mg/die den Tieren paratumoral und intramuskulär verabreicht wurde. In einer kleinen Voruntersuchung überprüften wir zunächst die Wirkung von Vitamin B_6 in den oben

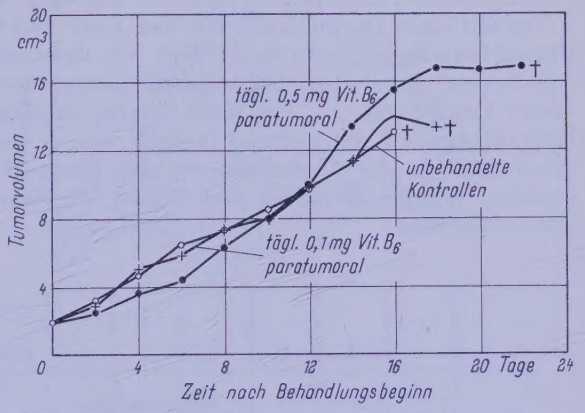

Abb. 1. Tumorvolumenentwicklung unter alleiniger Einwirkung von Vitamin B_6 in einer Dosierung von 0,5 bzw. 0,1 mg/die im Vergleich zu unbehandelten Wachstumskontrollen.

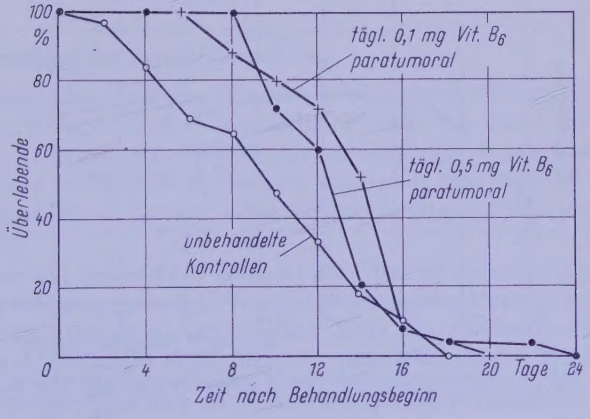

Abb. 2. Absterbekurven des Vorversuches. Anfänglich längeres Überleben der Versuchstiere unter Vitamin-B_6-Einfluß.

angeführten zwei Dosierungen am nichtbestrahlten Sarkom. Es ergab sich sowohl bei Verabreichung von 0,1 als auch von 0,5 mg Vitamin B_6 anfänglich kein nennenswerter Unterschied in der Tumorentwicklung gegenüber den Wachstumskontrollen. Bei der Verabreichung von Vitamin B_6 in der Dosis von 0,5 mg wuchs S 180 vom 14. Tag ab wesentlich schneller und erreichte bis zum 22. Tag nach Behandlungsbeginn Werte von fast 17 cm^3 Volumen (Abb. 1).

Da zudem die Absterbekurven anfänglich, als die Tumoren noch relativ geringe Größen aufwiesen, gegenüber den Kontrollen wesentlich flacher verliefen (Abb. 2), wurden 0,5 mg Vitamin B_6 als tägliche Einzeldosis in Kombination mit Röntgenbestrahlung verwendet.

Da S 180 sowohl bei paratumoraler als auch intramuskulärer Applikation in gleicher Weise reagierte, wurde für die folgende Röntgenstrahlenbehandlung auf eine parenterale Applikation von Vitamin B_6 verzichtet. In den beiden Gruppen, einmal Röntgenkontrollen und zum anderen Röntgenbestrahlung + paratumorale Vitamin-B_6-Verabreichung, ergaben sich folgende Resultate: In der Gruppe I (Röntgenkontrollen), in der 50 Tiere Verwendung fanden, zeigte sich eine stetige Volumenzunahme bis zum 8. Tag nach Versuchsbeginn. Danach bildeten sich die Tumoren durchschnittlich bis auf etwa 2,5 cm^3 Volumen am 22. Tag zurück. Diese Ergebnisse stimmen im wesentlichen mit unseren früheren Untersuchungen am gleichen Versuchstumor [18, 19, 20, 21] überein, nur daß hierbei die Tiere wesentlich länger überlebten. Anders liegen die Resultate bei paratumoraler Vitamin-B_6-Applikation. Die Sarkome entwickelten sich bis zum 4. Tag auf einen Durchschnittswert von 3 cm^3 und blieben bis zum 8. Tag nach Bestrahlungsbeginn auf diesem Wert, um dann auf ein Durchschnittsvolumen von 2,5 cm^3 abzufallen. Überraschenderweise überlebte keines der Tiere in dieser Gruppe den 12. Tag nach Bestrahlungsbeginn, so daß die Röntgenbestrahlungsserie nicht einmal beendet werden konnte (Abb. 3). Abbildung 4 veranschaulicht die Absterbekurven des Röntgenbestrahlungsversuchs, wobei zwischen Röntgenkontrollen und Vitamin-B_6-Behandlung signifikante Differenzen bestehen.

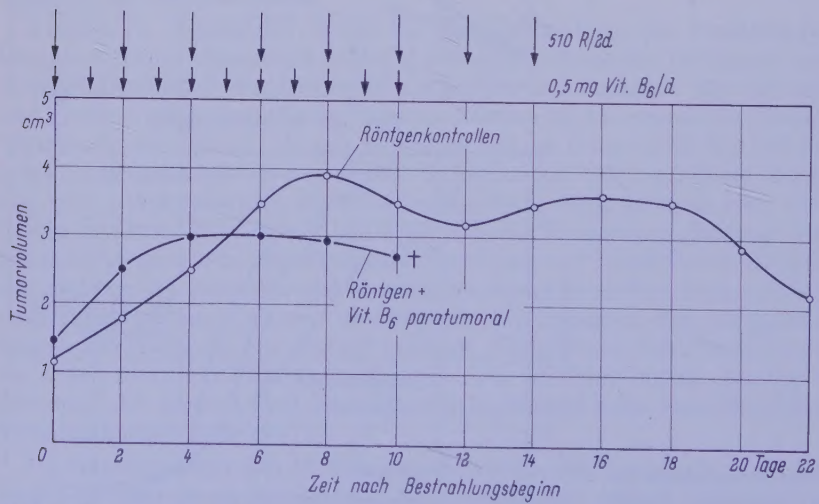

Abb. 3. Tumorvolumenänderungen unter Röntgenbestrahlung und paratumoraler Vitamin-B_6-Applikation (Volumenmessung am 12. Tag nicht mehr möglich).

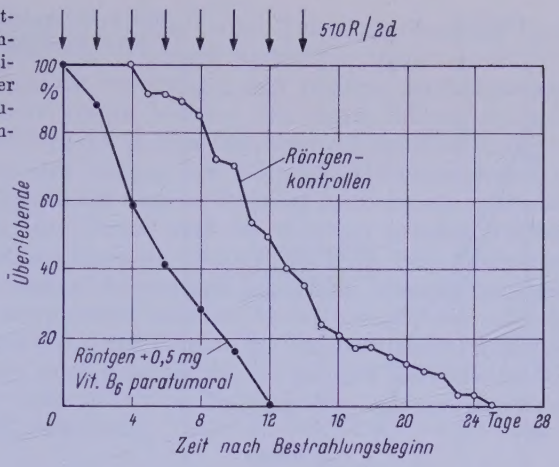

Abb. 4. Absterbekurven des Hauptversuches, vom Tage des Bestrahlungsbeginns ab beobachtet. Signifikant rascheres Absterben der röntgen- + Vitamin B_6 paratumoral behandelten Mäusen gegenüber Röntgenkontrollen.

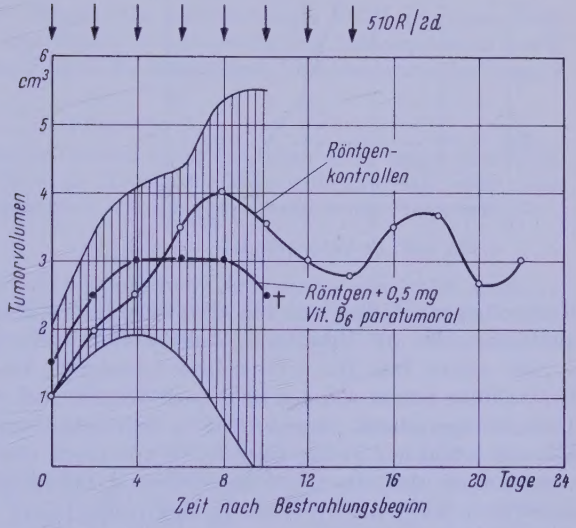

Abb. 5. Tumorwachstumskurven. Keine statistische Signifikanz zwischen den Röntgenkontrollen und den mit Vitamin B_6 paratumoral behandelten Tieren (schraffierte Fläche = mittlerer Fehler des Mittelwertes der mit Vitamin B_6 paratumoral behandelten Tiere).

Diskussion der Versuchsergebnisse

Die eingangs begründete Annahme, maligne Tumoren würden durch Vitamin B_6 angeregt und deshalb gegen Röntgenstrahlen sensibilisiert, läßt sich durch die Versuchsergebnisse nicht voll bestätigen. Die Tumorwachstumskurve der mit Vitamin B_6 behandelten Tiere verläuft zwar deutlich unterhalb der Kontrollkurve, jedoch besteht zwischen beiden Kurven keine statistische Signifikanz, wie aus Abbildung 5 hervorgeht.

Goldfelder, Cohen, Miller und *Singer* [22] konnten die Überlebensrate totalbestrahlter Mäuse durch Pyridoxingabe von 19% auf 58% steigern. Man mußte daher erwarten, daß die mit Vitamin B_6 behandelten Tiere die Kontrolltiere überleben würden. Wie aus Abbildung 4 ersichtlich ist, verendeten unsere Tiere der Gruppe II jedoch früher als die der Gruppe I. Die Tatsache, daß bei den

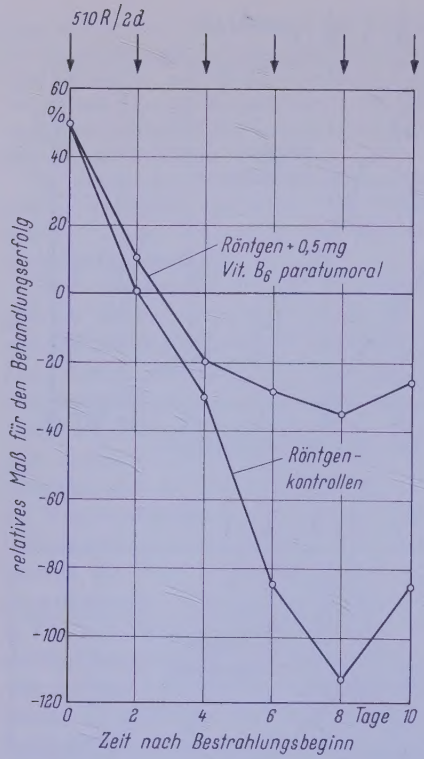

Abb. 6. Übersicht des Erfolges der Behandlung mit Vitamin B_6 gegenüber reiner Röntgenbestrahlung.

Kontrollen am 4. Tag nur 4% der Tiere leichte Hautschäden über dem Tumor aufwiesen, die mit Vitamin B_6 behandelten Tiere dagegen in 20% der Fälle, spricht schon fast für eine solche Annahme. Am 10. Tag nach Beginn der Bestrahlung haben von den zu diesem Termin noch überlebenden Kontrolltieren 15% Röntgenulzera, dagegen finden sich unter den mit Pyridoxin behandelten Mäusen schon am 8. Tag über 30% mit stark ulzerierenden Tumoren. Es ist verständlich, daß die nicht ausbleibende Infektion die Überlebensrate stark herabsetzt, während durch eitrige Nekrosenbildung und Abstoßung das mittlere Tumorvolumen abnimmt.

Nach einem von *Barth, Graebner* und *Wachsmann* [17] bereits mehrfach erwähnten Verfahren einer Tumorbehandlungsauswertung wurden hier ebenfalls Überlebensrate und Tumorvolumenentwicklung zusammengefaßt dargestellt, und es wurde versucht, einen Erfolg der kombinierten Methode — Vitamin-B_6- und Röntgenbehandlung im 48-Stunden-Rhythmus — zu ermitteln. Nach Abbildung 6 hat sich zwar eine günstige Entwicklung in den ersten Tagen gezeigt, jedoch durch das wesentlich frühere Absterben der zusätzlich mit Vitamin B_6 behandelten Tiere ist der Erfolg der Behandlung weit schlechter als bei den Röntgenkontrollen. Vergleicht man die Erfolgskurve der Röntgenkontrollen mit der bei *Barth, Graebner* und *Wachsmann* [17], so erscheint ein homozygoter Mäusestamm wie NMRI weniger für Bestrahlungsuntersuchungen geeignet als irgendein frohwüchsiger, heterozygoter Händlerstamm (s. auch *Barth, Dister* u. *Graebner* [23]).

Das immer wieder demonstrierte Modell einer Tumorbeeinflussung durch Vorbehandlung gesunder Tiere mit biologisch wirksamen Medien bzw. Zytostaticis führt dabei zu der falschen Vorstellung, daß Tumoren mit Hilfe dieser Zytostaticis günstig beeinflußt werden könnten. Bei einem Zellverband nach der Tumorimplantation handelt es sich ja noch nicht um ein manifestes Karzinom bzw. Sarkom, sondern nur um eine Sarkom- bzw. Karzinomzellenansammlung im subkutanen Bindegewebe. Es muß sich unserer Meinung nach erst ein manifester Tumor gebildet haben, d. h., der Tumor muß ein Volumen zwischen 1,0 und 1,5 cm^3 erreichen. Dann können sinnvolle Studien über die Beeinflußbarkeit irgendwelcher biologisch wirksamer Substanzen gegenüber Tumoren angestellt werden. Hierbei ergab sich entsprechend unserem Modellversuch keine günstige Beeinflußbarkeit des Sarkoms 180 durch Vitamin B_6, das paratumoral appliziert mit einer Strahlenbehandlung kombiniert wurde. An weiteren Versuchstumoren und Tierstämmen ist daher eine gründliche Testung der Tumoren gegenüber Wirksamkeit von Vitamin B_6 notwendig.

Zusammenfassung

Die an 220 männlichen weißen Mäusen des Inzuchtstammes NMRI vorgenommenen Untersuchungen ergaben keine signifikante Verminderung der Tumorvolumina sowie der Sterberaten unter zusätzlicher Vitamin-B_6-Behandlung. Eine Förderung der Tumorulzeration wurde diskutiert.

Summary

No significant decrease of tumor volumes or of the death rates under additional vitamin-B_6-treatment could be found in experiments done with 220 male white mice of the inbred strain NMRI. A stimulation of the tumor ulceration was discussed.

Résumé

Les recherches faites sur 220 souris blanches mâles de la souche pure NMRI soumises à un traitement adjuvant de vitamine B_6, ne montrent pas de diminution significative ni du volume de la tumeur ni des taux de la mortalité. L'influence sur l'ulceration de la tumeur est discutée.

Schrifttum

1. *Campi* u. *Scala:* Minerva med. II 41 (1949). — 2. *Strahm, A.:* Münch. med. Wschr. 1955: 855. — 3. *Lueje Casanueva, C.:* Acta iber. radiol. cancer. 4 (1955): 131. — 4. *Cattaneo* u. *Pelocchino:* Minerva med. 47 (1956): 190. — 5. *Hartweg* u. *Böwing:* Strahlentherapie 106 (1958): 289. — 6. *Hagerty, J. F.,* u. Mitarb.: 7. Intern. Krebskongr. London 1958, zit. in: Krebsarzt 13 (1958): 522. — 7. *Berndt, H.,* u. *I. Hiller:* Strahlentherapie 118 (1962): 294. — 8. *Langendorff, H., R. Koch* u. *U. Hagen:* Strahlentherapie 99 (1956): 375. — 9. *Langendorff, H.,* u. *H.-J. Melching:* Strahlentherapie 110 (1959): 505. — 10. *Bischoff, Ingraham* u. *Rupp:* Arch. Path. 35 (1943): 713. — 11. *Kline, Rusch, Baumann* u. *Lavik:* Cancer Res. 3 (1943): 825. — 12. *Miner* u. Mitarb.: Cancer Res. 4 (1944): 153. — 13. *Miller, E. C., C. A. Baumann* u. *H. P. Rusch:* Cancer Res. 5 (1945): 713. — 14. *Mihich, E., F. Rosen* u. *C. A. Nichol:* Cancer Res. 19 (1959): 1244. — 15. *Barth, G., H. Graebner* u. *H. Größenreuther:* Strahlentherapie 113 (1960): 280. — 16. *Oettel, H.,* u. *G. Wilhelm:* Arzneimittel-Forsch. 4 (1954): 625. — 17. *Barth, G., H. Graebner* u. *F. Wachsmann:* Strahlentherapie 112 (1960): 280. — 18. *Barth, G.,* u. *H. Graebner:* Strahlentherapie 115 (1961): 310. — 19. *Barth, G., H. Endisch* u. *H. Graebner:* Strahlentherapie 116 (1961): 550. — 20. *Abramowski, P., G. Barth* u. *H. Graebner:* Strahlentherapie 118 (1962): 375. — 21. *Winter, A.:* Diss. Gießen 1962. — 22. *Goldfelder, A., L. Cohen, Ch. Miller* u. *M. Singer:* Proc. Soc. exp. Biol. 67 (1948): 272. — 23. *Barth, G., E. Dister* u. *H. Graebner:* Strahlentherapie 121 (1963): 263.

LEBENSLAUF

Am 22. Januar 1935 wurde ich, Hermann Hubert Drechsel, als erstes Kind des Kaufmanns Wilhelm Drechsel und seiner Ehefrau Gunda, geb. Hubert, in Weißenfels an der Saale geboren.

Von 1941 an besuchte ich die Volksschule in Weißenfels. Im August 1944 verzogen wir nach Weißenburg/Bay., wo ich die vierte Klasse der Volksschule besuchte. Im Herbst 1945 trat ich in die altsprachliche Abteilung der Oberrealschule mit Gymnasium in Schwabach ein. Die drei letzten Jahre meiner Schulzeit verbrachte ich am Neuen Gymnasium Nürnberg, und erhielt im Juli 1956 das Reifezeugnis dieser Schule.

Im Wintersemester 1956/57 begann ich mein Medizinstudium an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen. Im Mai 1959 legte ich hier die ärztliche Vorprüfung ab und beendete das Medizinstudium im März 1964 mit dem Medizinischem Staatsexamen.